

明細書

肝機能保護作用組成物

技術分野

- 5 本発明は、補酵素Qを含む肝機能保護作用組成物に関する。

背景技術

- 10 肝臓は生体の化学工場に例えられ、胆汁の生成、3大栄養素である炭水化物、蛋白質、脂肪の代謝調節・貯蔵、老廃物や有害物質の分解・解毒、造血・血液量の調節等生体に欠かせない多種多様の重要な働きを受け持っている重要な臓器である。ウイルス感染、アルコールの過剰摂取、薬物中毒、食生活の乱れ、ストレス、喫煙等により前述した機能は障害を受け、急性肝炎、慢性肝炎、アルコール性脂肪肝、肝臓癌などの疾患に至る。

- 15 肝細胞がウイルス、アルコール、薬物などで障害を受けると、細胞中のグルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ（以下GOTと略記する。）やグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（以下GPTと略記する。）などの酵素が血液中に漏れ出てくるため、これらの血液中における酵素活性が上昇する。従って、血液中のこれらGOT、GPT活性は肝臓の機能障害を示す指標として広く一般に用いられている。

- 20 肝機能障害の予防または治療に使用される薬剤としては、抗ウイルス剤、免疫抑制剤、グルタチオン等が知られている。また、肝機能の保護・増強・改善に有効とされる飲食品としては、ウコン、セサミン、マリアアザミ、ゴマリグナンなどが知られている。

- 25 補酵素Qは、細菌から哺乳動物まで広く生体に分布する必須成分であり、生体内の細胞中におけるミトコンドリアの電子伝達系構成成分として存在していることが知られている。補酵素Qは、ミトコンドリア内において酸化と還元を繰り返すことで電子伝達系における伝達成分としての機能を担っているほか、還元型補酵素Qは抗酸化作用を示すことが知られている。ヒトでは、補酵素Qの側鎖が

繰り返し構造を 10 個持つ、補酵素 Q_{10} が主成分である。

補酵素 Q_{10} の重要な特徴として、その安全性が高いことが挙げられる。ラットに対する慢性毒性試験では、 1200 mg/Kg/日 、52 週間の連日投与でも、全く毒性的影響はなかったことが報告されている (K. D. Williams, et al, J. Agric. Food Chem., 47 3756-3763, 1999.)。 1200 mg/kg は、ヒト (体重 50 Kg) に換算すると、 60 g/日 となり、健康食品として欧米で用いられている補酵素 Q_{10} の常用量が $100\sim300\text{ mg/日}$ であるので、補酵素 Q_{10} の安全性には全く問題がないことが判る。

酸化型補酵素 Q_{10} が、日本ではうつ血性心不全薬として、欧米では健康食品として広く用いられている。補酵素 Q_{10} の肝機能保護に関連した使用例としては、酸化型補酵素 Q_{10} のラットへの腹腔内投与による四塩化炭素で惹起される肝機能障害の抑制効果 (T. Takahashi, et al, Biol. Pharm. Bull., 19 1005-1012, 1996.)、酸化型補酵素 Q_{10} と $0.01\sim0.1$ 重量%のセレンとを含んだ肝臓疾患のための医薬処方 (特開平 11-199477 号公報) 等の報告があるが、実質的にセレンを含まず酸化型補酵素 Q_{10} を含む組成物を経口摂取した際の肝機能障害に対する保護作用及び還元型補酵素 Q_{10} の摂取による肝機能障害に対する保護作用は知られていない。

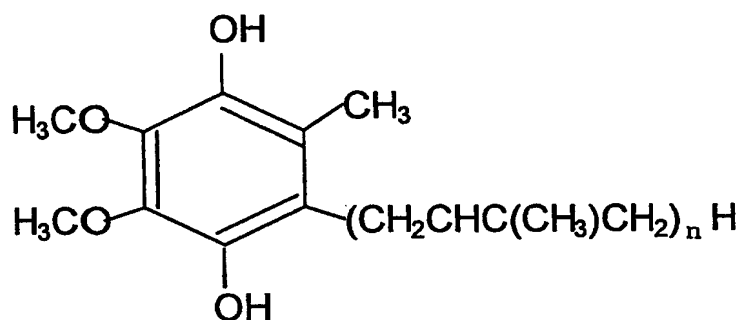
還元型補酵素 Q_{10} は、酸化型補酵素 Q_{10} が還元された物質であるが、空气中で容易に酸化を受け、酸化型補酵素 Q_{10} に変換されるために製品としての使用は、従来行われてこなかった。我々は、以前に酸化型補酵素 Q_{10} 単独に比較して、還元型補酵素 Q_{10} を混合することにより、補酵素 Q_{10} トータルとしての経口吸収性が高まることを見出した (特開平 10-109933 号公報) が、肝機能保護作用に関して還元型補酵素 Q_{10} が酸化型補酵素 Q_{10} に比較して優れた効果を示すかどうかは明らかではなかった。

本発明の目的は、肝機能保護作用を有し、なおかつ安全性に優れた物質を提供することである。

本発明者らは上記課題を解決すべく研究した結果、セレンを含有しなくとも、酸化型補酵素Qに肝機能保護作用があること、さらに、還元型補酵素

5 Qでは、酸化型補酵素Qより強い肝機能保護作用のあることを見出した。

すなわち、本発明は下記式（1）；

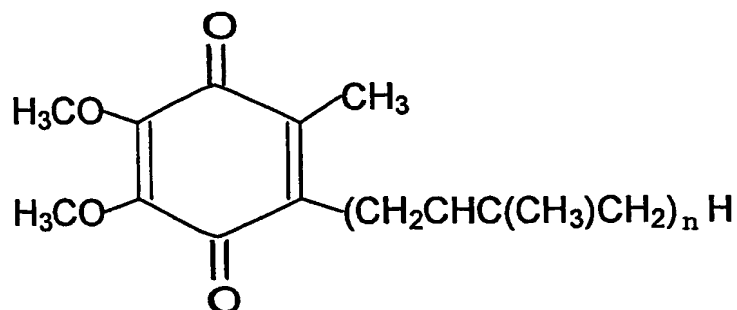


(1)

(式中、n は 1 ～ 12 の整数を表す)で表される還元型補酵素Qを含む肝機能保護作用組成物に関する。

10 一側面では、本発明は、上記還元型補酵素Qを有効成分とする肝機能保護剤を提供する。

また、本発明は、下記式（2）；



(2)

(式中、 n は 1 ～ 12 の整数を表す) で表される酸化型補酵素 Q、およびセレンを含む肝機能保護作用組成物であって、セレンの含有量が 0.01 重量%未満である肝機能保護作用組成物に関する。

- 5 一側面では、上記本発明は、また、酸化型補酵素 Q を有効成分とする肝機能保護剤を提供する。

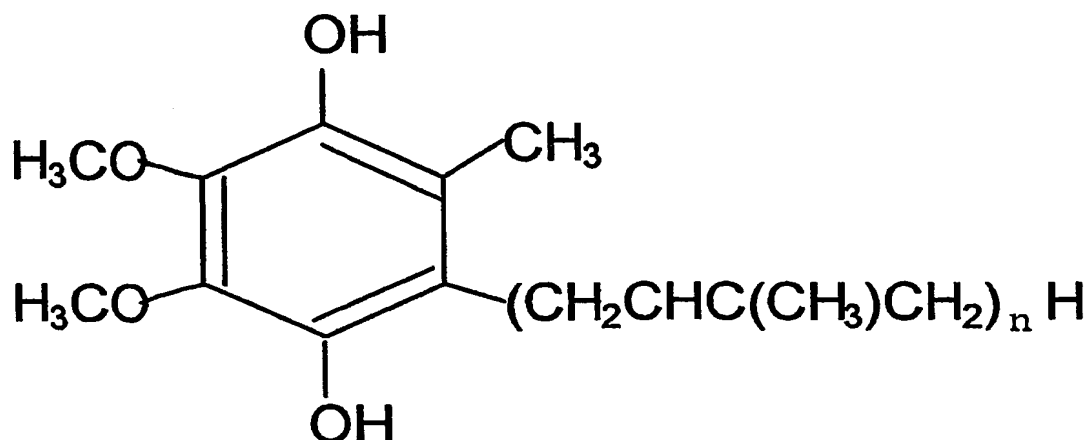
図面の簡単な説明

- 第 1 図は、ラット血漿中の GPT 活性の経時的な変化を表した折れ線グラフである。縦軸は、血漿中の GPT 活性を示している。横軸は四塩化炭素投与からの経過時間を示している。データは、溶媒対照群、還元型補酵素 Q_{10} (約 2% の酸化型補酵素 Q_{10} を含む) 群、酸化型補酵素 Q_{10} 群を表している。 $n = 4$ の平均値 ± 標準誤差で示した。
- 10

発明を実施するための最良の形態

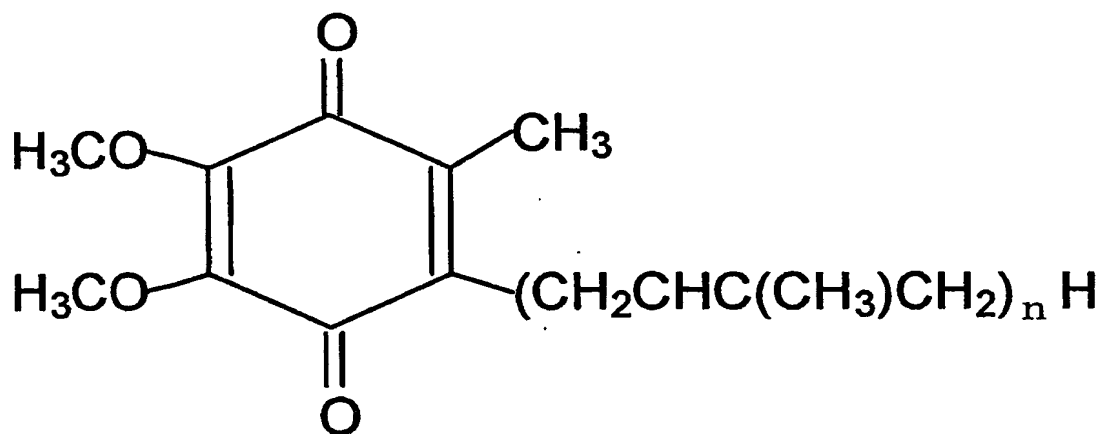
- 15 本発明において、肝機能の保護とは、肝機能を各種障害から保護する作用及び肝機能を障害から予防する作用を意味する。上記の肝機能の保護の例として、例えば四塩化炭素の投与による血中 GPT、GOT 活性の上昇を抑えることが挙げられる。

補酵素 Q は、下記式 (1) ;



(1)

(式中、 n は1～12の整数を表す)、および下記式(2)；



(2)

(式中、nは1～12の整数を表す)で表される。式(1)は還元型補酵素Qであり、式(2)は酸化型補酵素Qである。酸化型補酵素Qおよび還元型補酵素Qを得る方法としては特に限定されず、例えば、合成、発酵、天然物からの抽出等の従来公知の方法により補酵素Qを得た後、クロマトグラフィーにより流出液中の

酸化型補酵素 Q 区分あるいは還元型補酵素 Q 区分を濃縮する方法などを採用することが出来る。酸化型補酵素 Q を得たい場合には、公知の方法により得ることができる（例えば、特開昭 5 3 - 3 8 6 9 0 号公報参照）。還元型補酵素 Q を得る場合には、必要に応じて上記酸化型補酵素 Q に対し、水素化ほう素ナトリウム、

5 亜ジチオン酸ナトリウム(ハイドロサルファイトナトリウム)等の一般的な還元剤を添加し、常法により上記酸化型補酵素 Q を還元して還元型補酵素 Q とした後にクロマトグラフィーによる濃縮を行っても良い。また、既存の高純度酸化型補酵素 Q に上記還元剤を作用させる方法によっても還元型補酵素 Q を得ることが出来る。

10 本発明で利用できる補酵素 Q は、前記式 (1) および式 (2) で表されるように、側鎖の繰り返し単位 (式中 n) が 1 ~ 1 2 のものを使用することが出来るが、なかでも側鎖繰り返し単位が 1 0 のもの、すなわち補酵素 Q_{10} が特に好適に使用できる。ヒトでは、補酵素 Q の側鎖が繰り返し構造を 1 0 個持つ補酵素 Q_{10} が主成分だからである。

15 本発明の肝機能保護作用組成物（以下本発明の組成物という）は、一側面では、還元型補酵素 Q を含む組成物である。一側面では、本発明の組成物は、酸化型補酵素 Q およびセレンを含み、セレンの含有量が 0 . 0 1 重量%未満である組成物である。

本発明の還元型補酵素 Q を含む組成物において、還元型補酵素 Q の含有量
20 としては、0 . 0 0 1 ~ 9 9 重量%が望ましい。更に望ましくは 0 . 0 1 ~ 2 0 重量%である。

本発明の酸化型補酵素 Q およびセレンを含む組成物であって、セレンの含有量が 0 . 0 1 重量%未満である組成物において、酸化型補酵素 Q の含有量
25 としては、0 . 0 0 1 ~ 9 9 重量%が望ましい。更に望ましくは、0 . 0 1 ~ 2 0 重量%である。

還元型補酵素 Q を含む組成物は、酸化型補酵素 Q をさらに含んでもよい。この場合、補酵素 Q 全体に対する還元型補酵素 Q の含有量は特に制限はないが、5 0 重量%以上が好ましく、6 0 重量%以上がより好ましく、7 0 重量%

以上がさらに好ましく、80重量%以上がとりわけ好ましい。

本発明の酸化型補酵素Qを含む組成物は、セレンを含有しなくとも肝機能保護作用を有する。セレンの含有量としては、0.01重量%未満が好ましく、0.001重量%未満がより好ましい。

- 5 セレンの含有量が少ないまたはセレンを含まない組成物は、セレンによる生体への望ましくない影響が小さい点で有利である。

組成物中のセレン含有量は以下に示す方法で測定することができる。試料の適量をチューブに採り、10mlの濃硝酸を加え、室温で一晩放置する。チューブの温度を130℃まで徐々に上げ、茶色のガスを発生させ、液量が10 1mlになるまでそのまま温度を維持する。その後、チューブの温度を室温に戻し、3mlの過塩素酸を加える。チューブの温度を150℃まで徐々に上げ、二酸化窒素の茶色のガスから過塩素酸の白色のガスの発生に変わり、液量が1～2mlになるまで温度を維持する。その後、チューブの温度を室温まで戻し、6Nの塩酸を2ml添加する。それを130℃で1時間処理する。上記の処理サンプルに6Nアンモニア溶液を加え、pHを1～2に調整する。0.1%ジアミノナフタレン(DAN)溶液と50℃で20分間反応させ、シクロヘキサンで抽出する。シクロヘキサン相に含まれるセレン-ジアミノナフタレン複合体を分光蛍光分析(励起波長380nm、蛍光波長520nm)により測定し、試料中のセレン含量を算出する。

- 20 組成物中の還元型補酵素Q₁₀及び酸化型補酵素Q₁₀含量は以下に示す方法で測定することができる。試料50mgに水0.1ml、メタノール0.4ml、ヘキサン0.6mlをこの順で加える。これを約30秒間激しく振とうし、その後遠心分離により二層に分離する。有機溶媒層を定容量分取し、窒素ガスを用いて直ちに蒸発乾固させる。これに0.2mlのエタノールを25 添加し、定量分析用サンプルとする。還元型補酵素Q₁₀及び酸化型補酵素Q₁₀の定量分析は以下の条件に従い、高速液体クロマトグラフィーを用いて実施する。

カラム：長さ25cm、直径4.6mm、YMC-PACK ODS-A (株式会社ワ

イエムシイ製)

移動相：メタノール：ヘキサン（85：15、v/v）

検出波長：290nm

流速：1.0ml/min

5 本発明の組成物は、医薬品製剤、機能性食品、食品素材、あるいは動物用飼料などに使用することができる。ここでいう機能性食品とは、経口サプリメント、特定保健用食品、健康食品、栄養補助食品など医薬品以外で経口的に摂取することにより、健康の維持あるいは改善を目的とする製品を意味している。

10 本発明の組成物を作製する際の補酵素Qの含有量、剤型、保存方法および保存形態は、医薬品製剤、健康食品、食品、動物用医薬品、動物用飼料などの用途に応じて適宜決定できる。

本発明の組成物を含む医薬品製剤の、剤型としては特に限定されず、例えば、液剤であってもよく、粉末剤であってもよく、結合剤を加えて顆粒剤としてもよく、粉末をコーティング剤でコーティングしてもよく、粉末剤ある
15 いは顆粒剤、あるいはコーティング剤をカプセルに充填してカプセル剤としてもよい。上記液剤としては特に限定されず、例えばドリンク剤、注射剤、点滴用剤などがあげられる。また、天然油、油状の高級脂肪酸、高級脂肪酸モノグリセライド、界面活性剤またはこれらの混合物などを加え、油状のまま充填してソフトカプセル剤とすることもできる。この場合においては、ゼ
20 ラチンを主体としたものまたはその他の水溶性高分子物質を主体としたもの等を使用することもできる。また、このようなカプセルにはマイクロカプセルも含まれる。

本発明の組成物または医薬品製剤の投与形態は液状、固体状のいずれの形
25 態であってもよく、投与方法は、経口、注射、点滴、坐剤による投与、本発明の組成物含有食品を食する、など様々な方法を用いることができる。一般的には、簡便に摂取出来ることから、経口投与することが好ましいが、経口投与が困難である場合など、経口以外、例えば注射などの投与方法で本発明

の組成物を投与することは何ら問題はない。

本発明の組成物は、更には、従来用いられている肝機能保護作用を有する食品類に補酵素Qを含有させることもできる。

これらの組成物のうち、還元型補酵素Qを含む肝機能保護用組成物中には、
5 還元型補酵素Qを酸化から防護するために抗酸化剤を添加することが望ましいが、
剤型によっては、添加しなくてもよい場合もある。この時に用いることが出来る
抗酸化剤としては、クエン酸、クエン酸誘導体、ビタミンC、ビタミンC誘導体、
リコペン、ビタミンA、カロテノイド類、ビタミンB、ビタミンB誘導体、フラ
ボノイド類、ポリフェノール類、グルタチオン、セレン、チオ硫酸ナトリウム、
10 ビタミンE、ビタミンE誘導体、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)、
グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ、グル
タチオン還元酵素、カタラーゼ、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ、およびこれ
らの混合物が挙げられる。

これらの組成物のうち、還元型補酵素Qを含む肝機能保護用組成物中に
15 は同様に酸化防止の観点から、キレート剤を用いることも出来る。この時に
用いることの出来るキレート剤としては、エチレンジアミンテトラ酢酸およ
びその塩、エチレンジアミンジ酢酸およびその塩、ヒドロキシイミノジ酢酸
およびその塩、ヒドロキシエチルエチレンジアミンテトラ酢酸およびその塩、
ジエチレントリアミンペンタ酢酸およびその塩、ニトリロトリ酢酸およびそ
20 の塩、トリエチレンテトラアミンヘキサ酢酸およびその塩、ジカルボキシメ
チルグルタミン酸テトラナトリウム塩、ジヒドロキシメチルグリシン、1、
3-プロパンジアミンテトラ酢酸およびその塩、1、3-ジアミノ-2-ヒ
ドロキシプロパンテトラ酢酸およびその塩、グルコン酸ナトリウム塩、ヒド
ロキシエチルイデンジホスホン酸、ニトリロトリス、ホスホノブタントリカ
25 ルボン酸、およびこれらの混合物が挙げられる。更に、以上の抗酸化剤とキ
レート剤を併用することもできる。

本発明の組成物には、更に、上記補酵素Qの他に薬剤学的小および食品衛生学
的に許容される他の素材を常法により適宜添加混合してもよい。このようなもの

としては特に限定されず、例えば、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、コーティング剤、着色剤、凝集防止剤、吸収促進剤、溶解補助剤、安定化剤、健康食品素材、栄養補助食品素材、ビタミンなどが挙げられる。

- 上記賦形剤としては特に限定されず、例えば、白糖、乳糖、ブドウ糖、コーンスターチ、マンニトール、結晶セルロース、リン酸カルシウム、硫酸カルシウムなどが挙げられる。上記崩壊剤としては特に限定されず、例えば、澱粉、寒天、クエン酸カルシウム、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、デキストリン、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロース、トラガント等が挙げられる。上記滑沢剤としては特に限定されず、例えば、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール、シリカ、硬化植物油等が挙げられる。上記結合剤としては特に限定されず、例えば、エチルセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、トラガント、シェラック、ゼラチン、アラビアゴム、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ソルビトール等が挙げられる。上記コーティング剤としては特に限定されず、アラビアゴム、オパドライ、カゴソウ、カスターワックス、カルボキシビニルポリマー、カルメロース、含水二酸化ケイ素、ケイ酸マグネシウム、酢酸ビニル樹脂、ステアリン酸、セタノール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース等が挙げられる。上記着色剤としては特に限定されず、例えば、医薬品あるいは食品に添加することが許可されているものなどを使用することができる。上記凝集防止剤としては特に限定されず、例えばステアリン酸、タルク、軽質無水ケイ酸、含水二酸化ケイ酸などが挙げられる。上記吸収促進剤としては特に限定されず、例えば高級アルコール類、高級脂肪酸類、グリセリン脂肪酸エステルなどの界面活性剤などが挙げられる。上記溶解補助剤としては特に限定されず、例えばフマル酸、コハク酸、りんご酸などの有機酸などが挙げられる。上記安定化剤としては特に限定されず、例えば安息香酸、安息香酸ナトリウム、パラオキシ安息香酸エチルなどが挙げられる。上記健康食品素材としては特に限定されず、肝機能保護作用を有する食品類（例えば、フラバンジェノール、ウコン、セサミン、マリアアザミ、ゴマリグナンなど）、漢方薬（例えば、胃苓湯、温経湯、温清飲、

黄耆建中湯、黄連解毒湯、黄連湯、葛根湯、加味帰脾湯、加味逍遙散、甘麦大棗湯、桔梗湯、帰脾湯、九味檳榔湯、荊芥連翹湯、桂皮加芍薬大黄湯、桂皮加芍薬湯、桂皮加竜骨牡蛎湯、桂枝湯、桂枝人参湯、桂枝茯苓丸、啓脾湯、香蘇散、五虎湯、五積散、牛車腎気丸、五淋散、柴陷湯、柴胡加竜骨牡蛎湯、柴胡桂皮乾姜湯、柴胡桂枝湯、柴胡清肝湯、柴朴湯、柴苓湯、酸棗仁湯、滋陰降火湯、四逆散、四君子湯、四物湯、炙甘草湯、芍薬甘草湯、十全大補湯、十味敗毒湯、小建中湯、小柴胡湯、小青竜湯、消風散、辛夷清肺湯、神秘湯、真武湯、清上防風湯、清暑益気湯、清心蓮子飲、清肺湯、疎経活血湯、大黄甘草湯、大黄牡丹皮湯、大建中湯、大柴胡湯、大柴胡湯去大黄、大承気湯、大防風湯、治打撲一方、調胃承気湯、釣藤散、腸癰湯、猪苓湯、猪苓湯合四物湯、通導散、桃核承気湯、当帰飲子、当帰建中湯、当帰芍薬散、当帰湯、二陳湯、女神散、人参湯、人参養栄湯、排膿散及湯、麦門冬湯、八味地黄丸、半夏厚朴湯、半夏瀉心湯、白虎加人参湯、茯苓飲、茯苓飲合半夏厚朴湯、平胃散、防已黄耆湯、防風通聖散、補中益気湯、麻黄湯、麻黄附子細辛湯、麻杏甘石湯、麻子仁丸、木防已湯、抑肝散、抑肝散加陳皮半夏、六君子湯、立効散、竜胆瀉肝湯、苓甘姜味辛夏仁湯、六味丸など）、茶葉（例えば、緑茶、玄米茶、抹茶、煎茶、ほうじ茶、焙茶、ジャスミン茶、ウーロン茶、紅茶、黒茶、花茶、青茶、白茶、など）、ハーブ（例えばイタリアンパセリ、エリキャンペーン、オリーブ、オレガノ、カールドン、カモミール、カレブラント、キャットニップ、キャラウェイ、クリスマスローズ、クリムソンクローバ、コーンフラワー、コモンマロウ、サラダバーネット、サントリナ、シナモン、ジャスミン、ステビア、セージ、セイヨウボダイジュ、センテッドゼラニウム、セントジョーンズワート、ソープワート、ソロモンズシール、タイム、タンジー、チャービル、チャイブ、ナスタチウム、ナツメ、バジル、ハニーサックル、ヒソップ、フラックス、フェンネル、フォックスグローブ、ブラックリーホーリーホック、フレンチマリーゴールド、ベトニー、ヘリオトロープ、ベルガモット、ヘンプアグリモニー、ヘンルーダ、ポットマリーゴールド、ボリジ、ホワイットホアハウンド、マートル、マーレイン、マジョラム、ミント、ヤロウ、ラベンダー、レディースベッドストロー、レモングラス、レモンバーベナ、レモンバーム、ロ

ーズ、ローズマリー、ロケット、ワイルドストロベリー、ワイルドパンジー、わすれな草など)、プロポリス、イチョウ葉、青汁およびこれらの抽出物などが挙げられる。上記健康食品素材は、肝機能保護作用を有する食品類、例えば、フラバンジェノール、ウコン、セサミン、マリアアザミ、ゴマリグナンなどが好ましい。上記栄養補助食品素材としては特に限定されず、アミノ酸類、金属イオン類、蛋白質類、糖類、脂肪酸類、酵母抽出物、野菜抽出物、魚肉抽出物、果実、果実抽出物などが挙げられる。上記ビタミンとしては特に限定されず、ビタミンA、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンK、ビタミンB₁、ビタミンB₂、ナイアシン、ビタミンB₆、葉酸、ビタミンB₁₂、ビオチン、パントテン酸、ビタミンC、ピロロキノリンキノンなどが挙げられる。

本発明で得られる組成物を適宜用いることで、哺乳動物、例えばヒト及び動物の肝機能を有効に保護することができる。

実施例

以下に実施例及び製剤例をあげて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例および製剤例のみに限定されるものではない。

(実施例1)

四塩化炭素による肝障害モデルを用いて補酵素Q₁₀の障害保護及び予防効果を評価した。SD系ラット(6週齢、雄)に、酸化型補酵素Q₁₀あるいは還元型補酵素Q₁₀(但し、約2%の酸化型補酵素Q₁₀を含む)の大豆油溶液を100 mg/kgの投与量で経口投与した。それから約16時間後に頸静脈から抗凝固剤としてヘパリンを用いて採血を行い、その1時間後に50%四塩化炭素(ナカライテスク社製)／オリーブオイル(和光純薬工業社製)を2.0 ml/kgの投与量で腹腔内に投与した。四塩化炭素投与から24、48、72時間後に採血を行った。採取した血液を遠心分離し、血漿を得た。得られた血漿中のGPT活性をトランスアミナーゼCII-テストワコー(和光純薬工業社製)を用いて測定した。

第1図はラット血漿中のGPT活性の測定結果を示したものである。四塩化炭素投与から24時間後の血漿中のGPT活性は、溶媒対照群に比較して、酸化

型補酵素 Q_{10} 投与群では約 60% に、また還元型補酵素 Q_{10} 投与群では約 25% に抑制された。このように溶媒対照群、酸化型補酵素 Q_{10} 投与群、還元型補酵素 Q_{10} 投与群の順に血漿中の GPT 活性が低くなる傾向は 48 時間後、72 時間後においても観察された。以上の結果から補酵素 Q_{10} の投与により肝機能障害が抑制されることが判る。また、還元型補酵素 Q_{10} の投与は酸化型補酵素 Q_{10} の投与よりも強く肝機能障害を抑制することが判る。

(製剤例 1)

オリーブオイルを 60℃ に加温し、同様に 60℃ で溶融した補酵素 Q_{10} (還元型補酵素 Q_{10} : 酸化型補酵素 Q_{10} = 85 : 15) を加え溶解した。これにビタミン E を少しずつ加えて均質とし、常法によりソフトカプセル化した。1 カプセル中に補酵素 Q_{10} として 20 mg を含有するソフトカプセル製剤を得た。

補酵素 Q_{10}	20 重量部
ビタミン E	15 重量部
オリーブ油	350 重量部

15 (製剤例 2)

補酵素 Q_{10} (還元型補酵素 Q_{10} : 酸化型補酵素 Q_{10} = 85 : 15) をアセトンに溶解し、次いでこれを結晶セルロース (微粉末) に吸着させた後、乾燥した。これをコーンスターチと混合し、常法により散剤とした。

補酵素 Q_{10}	10 重量部
結晶セルロース	40 重量部
コーンスターチ	55 重量部

(製剤例 3)

補酵素 Q_{10} (還元型補酵素 Q_{10} : 酸化型補酵素 Q_{10} = 85 : 15) をアセトンに溶解し、次いでこれを結晶セルロース (微粉末) に吸着させた後、乾燥した。これにコーンスターチ、乳糖、カルボキシメチルセルロース、ステアリン酸マグネシウムを混合し、次いでポリビニルピロリドンの水溶液を結合剤として加えて常法により顆粒化した。これに滑沢剤としてタルクを加えて混合した後、1 錠に補酵素 Q_{10} を 20 mg 含有する錠剤に打錠した。

	補酵素 Q_{10}	20重量部
	コーンスターチ	25重量部
	乳糖	15重量部
	カルボキシメチルセルロースカルシウム	10重量部
5	結晶セルロース	40重量部
	ポリビニルピロリドン	5重量部
	ステアリン酸マグネシウム	3重量部
	タルク	10重量部

(製剤例4)

- 10 下記成分を常法により顆粒化した後、ゼラチン硬カプセルに充填した。1カプセル中に補酵素 Q_{10} を20mg含有するカプセル剤を得た。

補酵素 Q_{10} (還元型補酵素 Q_{10} : 酸化型補酵素 Q_{10} = 85 : 15) 20重量部

	結晶セルロース	40重量部
15	コーンスターチ	20重量部
	乳糖	62重量部
	ステアリン酸マグネシウム	2重量部
	ポリビニルピロリドン	3重量部

(製剤例5)

- 20 オリーブオイルを60℃に加温し、同様に60℃で溶融した酸化型補酵素 Q_{10} を加え溶解した。これにビタミンEを少しずつ加えて均質とし、常法によりソフトカプセル化した。1カプセル中に酸化型補酵素 Q_{10} を20mg含有するソフトカプセル製剤を得た。

	酸化型補酵素 Q_{10}	20重量部
25	ビタミンE	15重量部
	オリーブ油	350重量部

産業上の利用可能性

本発明により、安全性が高く、肝機能障害を予防、低減することが可能な組成物を提供することができる。

5

10

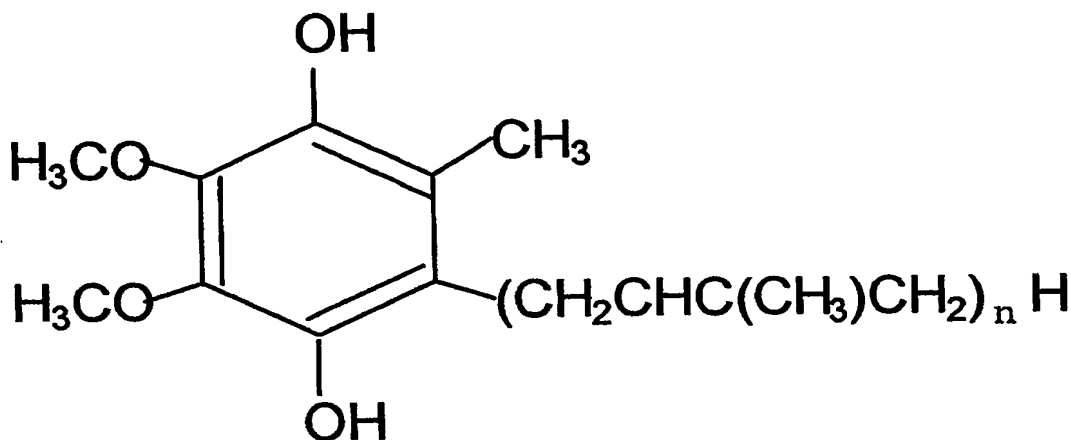
15

20

25

請 求 の 範 囲

1. 下記式 (1) ;



(1)

(式中、nは1～12の整数を表す)で表される還元型補酵素Qを含む肝機能保護作用組成物。

2. 請求の範囲第1項に記載の組成物であって、還元型補酵素Qが還元型補酵素Q₁₀である肝機能保護作用組成物。

3. 請求の範囲第1項または第2項記載の肝機能保護作用組成物であつて、還元型補酵素Qの含有量が0.001～99重量%である組成物。

10 4. 健康食品素材をさらに含有する請求の範囲第1項～第3項のいずれかに記載の組成物。

5. 請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載の組成物を含む、肝機能保護用の医薬品製剤。

6. 粉末剤またはカプセル剤の形態である、請求の範囲第5項の医薬品製剤。

15 7. ドリンク剤、注射剤または点滴用剤の形態である、請求の範囲第5項の医薬
品製剤。

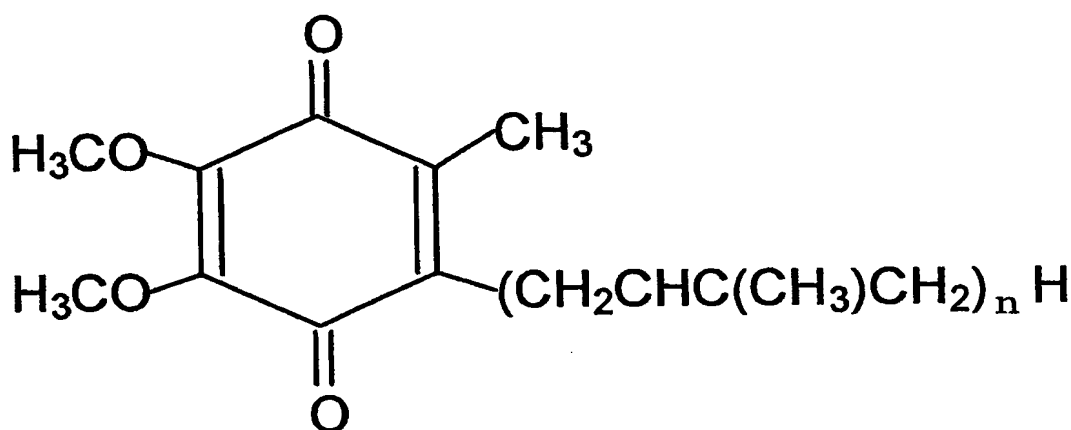
8. 請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載の組成物を含む、肝機能保護用の機能性食品。

9. 請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載の組成物を含む、肝機能保護用の動物用飼料。

10. 請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載の組成物を、哺乳動物に投与することを含む哺乳動物の肝機能を保護する方法。

- 5 11. 請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載の組成物を、哺乳動物に経口投与することを含む哺乳動物の肝機能を保護する方法。

12. 下記式(2)；



(2)

- (式中、 n は1～12の整数を表す)で表される酸化型補酵素Q、および
10 セレンを含む肝機能保護作用組成物であって、セレンの含有量が0.0
1 重量%未満である肝機能保護作用組成物。
13. 請求の範囲第12項に記載の肝機能保護作用組成物であって、経口投与用の組成物。
14. 請求の範囲第12項または第13項記載の組成物であって、酸化型補酵素
15 Qが酸化型補酵素 Q_{10} である肝機能保護作用組成物。
15. 請求の範囲第12項～第14項のいずれかに記載の肝機能保護作用組成物であって、酸化型補酵素Qの含有量が0.001～99重量%である組成物。

16. さらに健康食品素材をさらに含有する請求の範囲第12項～第15項のいずれかに記載の組成物。

17. 請求の範囲第12項～第16項のいずれかに記載の組成物を含む、肝機能保護用の医薬品製剤。

5 18. 顆粒剤、粉末剤またはカプセル剤の形態である、請求の範囲第17項の医薬品製剤。

19. ドリンク剤、注射剤または点滴用剤の形態である、請求の範囲第17項の医薬品製剤。

10 20. 請求の範囲第12項～第16項のいずれかに記載の組成物を含む、肝機能保護用の機能性食品。

21. 請求の範囲第12項～第16項のいずれかに記載の組成物を含む、肝機能保護用の動物用飼料。

22. 請求の範囲第12項～第16項のいずれかに記載の組成物を、哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物の肝機能を保護する方法。

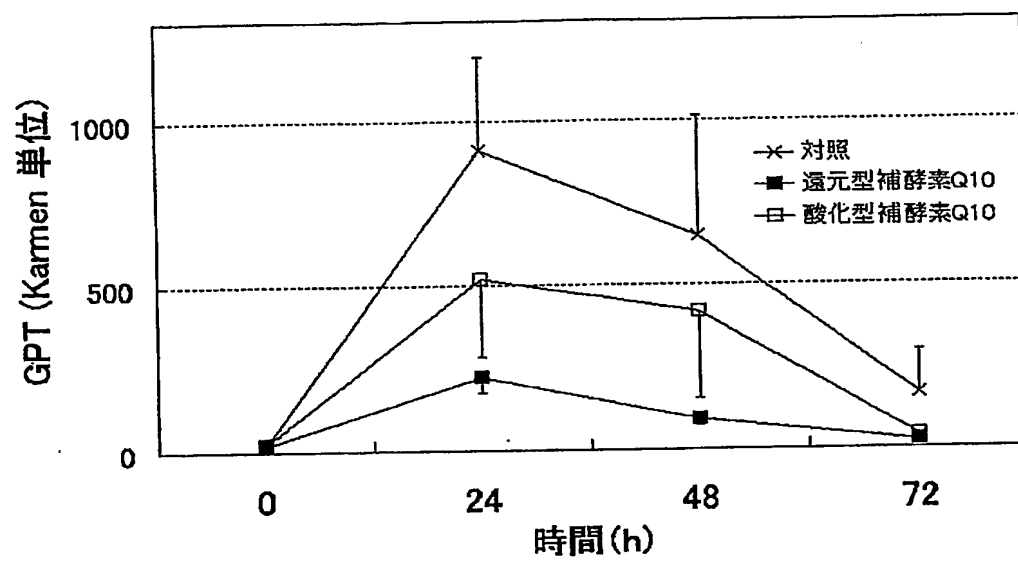
15

20

25

1 / 1

第1図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016485

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/09, 31/075, 9/08, 9/14, 9/16, 9/48, A23L1/30, A23K1/165, 1/16, A61P1/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/09, 31/075, 9/08, 9/14, 9/16, 9/48, A23L1/30, A23K1/165, 1/16, A61P1/16

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

REGISTRY (STN), CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2003-26625 A (Kaneka Corp.), 29 January, 2003 (29.01.03), Claims 1, 23; Par. No. [0030] & WO 2002/090304 A1 & EP 1386095 A1	1-4, 8, 9 1-4, 6, 7, 8, 9
X Y	JP 2003-119127 A (Kaneka Corp.), 23 April, 2003 (23.04.03), Claims 1, 3, 8, 12 (Family: none)	1-4, 8, 9, 12-16, 20, 21 1-4, 6, 7, 8, 9, 12-16, 18-21
Y	Vallerian E.K., Elena A. et al., Antioxidant action of ubiquinol homologues with different isoprenoid chain length in biomembranes, Free Radical Biology & Medicine, 1990, Vol.9, pages 117 to 126, page 119, Fig. 1C; page 121, Fig. 4	1-3, 5-7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
25 January, 2005 (25.01.05)

Date of mailing of the international search report
15 February, 2005 (15.02.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016485

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Takahashi T., Sugimoto N., Takahata K. et al., Cellular antioxidant defense by a ubiquinol-regenerating system coupled with cystolic NADPH-dependent ubiquinone reductase: Protective effect against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat, Biol.Pharm. Bull., 1996, Vol.19, No.8, pages 1005 to 1012, page 1010, lower left column	1-3,5-7
Y	Tatsuya AMIMOTO, "Acetaminophen ni yoru Mouse Kanshogai Kiko to Shiyosei Kosankazai ni yoru Hogo Kiko", Hiroshima Daigaku Igaku Zasshi, 1993 Nen, Vol.41, No.6, pages 417 to 427, page 421, left column, line 4 to page 422, right column, line 6; page 422, tables 1, 2	1-3,5-7
Y	T. Matura, K. Yamada, T. Kawasaki, Protective effects of coenzyme Q10 and a-tocopherol against free radical-mediated liver cell injury, Redox Report, 1995, Vol.1, No.5, pages 343 to 347, page 345, right column, lines 10 to 18	1-3,5-7
Y	JP 2003-104945 A (Jiro TAKADA, Kazuhiro IMAI), 09 April, 2003 (09.04.03), Par. Nos. [0003] to [0005] (Family: none)	1-3,5-7
Y	JP 10-109933 A (Kaneka Corp.), 28 April, 1998 (28.04.98), Examples 1, 2; Figs. 1, 2 & WO 98/07417 A1 & EP 956854 A1 & US 6184255 B1	1-3,5-7
X Y	JP 9-187229 A (Idemitsu Materials Co., Ltd.), 22 July, 1997 (22.07.97), Claim 1; Par. No. [0008] (Family: none)	12-16,20,21 12-16,20,21
X Y	JP 2003-306429 A (Nisshin Faruma Kabushiki Kaisha), 28 October, 2003 (28.10.03), Claims 1, 4, 7; Par. No. [0008] (Family: none)	12-16,20,21 12-16,20,21
X Y	Abdullah M.A.B., Khurdhid A. et al., Coenzyme Q10 ameliorates the hepatic toxicity induced by carbon tetrachloride in mice, Research Communications in Pharmacology and Toxicology, 1999, Vol.4, No.3, 4, pages 163 to 170, table 1, Figs. 1, 2	12-15,17 18,19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016485

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	Hiroshi MARUYAMA, Kiyonori KIKKAWA, Masahiko ONDA, "Endotoxin Shock-ji no Kansaibo Shogai ni Taisuru coenzyme Q10 no Yuyosei ni Tsuite Tokuni Endotoxin Kasseika Takaku Hakkekkyu o Chushin ni", Nihon Ika Daigaku Zasshi, 1995 Nen, Vol.62, No.3, pages 271 to 282, Figs. 2, 3	12-15,17 18,19
X Y	WO 2000/057871 A2 (PURDUE RESEARCH FOUNDATION), 05 October, 2000 (05.10.00), Claims 1, 11; page 18, lines 19 to 34; page 22, lines 25 to 32 & AU 2000/039306 A	12-15,17 18,19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016485

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 10, 11, 22
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 10, 11 and 22 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/09, 31/075, 9/08, 9/14, 9/16, 9/48, A23L1/30, A23K1/165, 1/16, A61P1/16

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/09, 31/075, 9/08, 9/14, 9/16, 9/48, A23L1/30, A23K1/165, 1/16, A61P1/16

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
REGISTRY(STN), CAPLUS(STN), MEDLINE(STN), EMBASE(STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	JP 2003-26625 A (鐘淵化学工業株式会社) 2003.01.29 特許請求の範囲 1、23、[0030] など & WO 2002/090304 A1 & EP 1386095 A1	1-4, 8, 9 1-4, 6, 7, 8, 9
X Y	JP 2003-119127 A (鐘淵化学工業株式会社) 2003.04.23 特許請求の範囲 1、3、8、12 (ファミリーなし)	1-4, 8, 9, 12-16, 20, 21 1-4, 6, 7, 8, 9, 12-16, 18-21
Y	Vallerian E K, Elena A, et al.	1-3, 5-7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

25.01.2005

国際調査報告の発送日

15.2.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

福井 美穂

4P

3337

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	Antioxidant action of ubiquinol homologues with different isoprenoid chain length in biomembranes, Free Radical Biology & Medicine, 1990, Vol.9, page. 117-126 第119頁の図1C、第121頁の図4など	
Y	Takahashi T, Sugimoto N, Takahata K, et al. Cellular antioxidant defense by a ubiquinol-regenerating system coupled with cystolic NADPH-dependent ubiquinone reductase: Protective effect against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat, Biol. Pharm. Bull., 1996, Vol.19, Number 8, page.1005-1012 第1010頁の左下欄	1-3, 5-7
Y	網本達也 アセトアミノフェンによるマウス肝障害機構と脂溶性抗酸化剤による保護機構、広島大学医学雑誌、1993年、第41巻、第6号、p. 417-427 第421頁の左欄第4行～第422頁の右欄第6行、第422頁の表1、2など	1-3, 5-7
Y	T Matura, K Yamada, T Kawasaki Protective effects of coenzyme Q10 and a-tocopherol against free radical-mediated liver cell injury, Redox Report, 1995, Vol.1, Number 5, page.343-347 第345頁右欄第10行～18行など	1-3, 5-7
Y	JP 2003-104945 A (高田二郎、今井一洋) 2003. 04. 09 [0003]-[0005] (ファミリーなし)	1-3, 5-7
Y	JP 10-109933 A (鐘淵化学株式会社) 1998. 04. 28 実施例1、2、図1、2 & WO 98/07417 A1 & EP 956854 A1 & US 6184255 B1	1-3, 5-7
X Y	JP 9-187229 A (出光マテリアル株式会社) 1997. 07. 22 特許請求の範囲1、[0008] (ファミリーなし)	12-16, 20, 21 12-16, 20, 21
X Y	JP 2003-306429 A (日清ファルマ株式会社) 2003. 10. 28 特許請求の範囲1、4、7、[0008] (ファミリーなし)	12-16, 20, 21 12-16, 20, 21
X Y	Abdullah M A B, Khurdhid A, et al. Coenzyme Q10 ameliorates the hepatic toxicity induced by carbon tetrachloride in mice, Research Communications in Pharmacology and Toxicology, 1999, Vol.4, Number 3&4, page.163-170	12-15, 17 18, 19

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	表 1、図 1、2 など	
X Y	丸山弘、吉川清憲、恩田晶彦 エンドトキシンショック時の肝細胞障害に対する coenzyme Q10 の 有用性について とくにエンドトキシン活性化多核白血球を中心 に、日本医科大学雑誌、1995年、第62巻、第3号、 p. 271-282 図 2、図 3 など	12-15, 17 18, 19
X Y	WO 2000/057871 A2 (PURDUE RESEARCH FOUNDATION) 2000.10.05 特許請求の範囲 1、11、第18頁の第19行～第34行、第22 頁の第25行～第32行など & AU 2000/039306 A	12-15, 17 18, 19

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 10、11、22 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求の範囲10、11、22は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。